

Opponensi vélemény

Dr. Halmosi Róbert: "A poli(ADP-ribóz) polimeráz enzim gátlása és a természetes polifenolok hatása a kardiovaszkuláris remodellingre és a szívelégtelenség kialakulására" című MTA doktori értekezéséről.

A disszertáció 200 számozott oldalt tartalmaz. A 11 angol nyelvű publikációra épülő magyar nyelvű összefoglaló felépítése arányos, a pályázó legfontosabb tudományos megfigyeléseit kiváló felépítésben tartalmazza. A leghosszabb, 59 oldalas „Eredmények” fejezetet a 34 oldal hosszú „Megbeszélés” rész követi. Az „Irodalmi áttekintés” 18 oldal hosszúságú, a „Célkitűzések” 2 oldal terjedelmű, a kutatás módszertana pedig 18 oldalon át kerül bemutatásra. A szerző „A következtetések, új tudományos megállapítások” kifejtésére 3 oldalt szánt. Az „Irodalomjegyzék” 371 irodalmi hivatkozást tartalmaz. A disszertáció legelején, közvetlenül a „Tartalomjegyzék” után található meg a jelölt saját „in extenso” közleményeinek felsorolása 6 oldal terjedelemben, melyet a Scientometriai adatok követnek az MTA Orvosi Tudományok Osztálya által előírt táblázatos formában.

Dr. Halmosi Róbert tudományos eredményeit kellően hangsúlyozza jelentős publikációs tevékenysége eddigi életpályája során. Munkáiból a Ph.D. fokozat megszerzését követően a disszertáció benyújtásáig 29 *in extenso* közlemény született, ezek közül 10 közleményben első vagy pedig utolsó szerző. A disszertáció benyújtásakor, a jelölt által jegyzett publikációk kumulatív impakt faktora: 80,82, míg a független hivatkozásainak száma: 542. A disszertáció alapjául szolgáló közleményeinek összesített impakt faktora: 41,039, a rájuk történt hivatkozások száma a bírálókat időpontjában 338.

Az értekezés nyelvezete gördülékeny, fogalmazása precíz, kifogástalan. Gépelési hibák csak elvétve fordulnak elő, amelyeket kár is megemlíteni, ezért ezek felsorolásától eltekintek. Az „Irodalmi bevezetés” fejezetben a disszertáció fő témájaként szereplő szívelégtelenség a kiindulási pont. A fejezet röviden szól a szívelégtelenség két legfontosabb rizikótényezőjéről, a koszorúér betegségről és a hipertóniáról, majd azon subcelluláris mechanizmusokat tárgyalja, amelyek a szívelégtelenség kialakulásában alapvető szerepet játszanak. Az eredmények bemutatása részletezett tematikai szempontok szerint történik. Röviden ismertetésre kerülnek a Pécsi Tudományegyetemen szintetizált PARP-gátló, és az L-2286 hatásai akut celluláris stressz során. Ennek folyamán a molekula hatékonysága is összevetésre kerül egyes prekursor molekulákkal. Ezt követően farmakológiai PARP-gátlás hatása kerül bemutatásra három különböző etiológiájú kísérletes szívelégtelenség modellben.

Külön kerül ismertetésre a korai hipertenzív szervkárosodások (szív, nagyerek, központi idegrendszer) kialakulásának, illetve azok L-2286-al történő modulálásának a vizsgálata.

Az „Eredmények” fejezetet a természetes polifenollal – a rezveratrollal – végzett vizsgálatok zárják (posztinfarktusos szívelégtelenség modell, ill. posztinfarktusos betegek vizsgálata). Az egyes fejezetek terjedelme arányos, egyik sem túlzott hosszúságú, pontosan annyi amennyi a megértéshez szükséges.

A Megbeszélés fejezet tagolása alapvetően ugyan követi az előző fejezetét, azonban a komparatív vizsgálatok diszkussziója külön történik meg. Emellett tematikus csoportosításban kerülnek megbeszélésre a PARP-gátlás hatásai a kardiovaszkuláris átépülés különböző pathophysiológiai folyamataira, illetve ezen változások hátterében álló subcelluláris tényezőkre/folyamatokra (jelátvitel, chaperone fehérjék, mitokondriális dinamika, ill. energetika).

Az MTA doktori disszertáció a jelölt Ph.D. értekezését követő 15 éves életszakaszának tudományos összefoglalása. Kiemelendőnek tekintendő mindaz, hogy a vizsgálatokhoz felhasznált módszerek a kísérletes kardiológia igen széles spektrumát ölelik fel. Az elvégzett kísérletes munkák ugyanis az alapkutatótól egészen a humán klinikai vizsgálatig terjednek.

Az értekezéssel kapcsolatban a következő tartalmi kérdéseket fogalmaztam meg:

1. A Jelölt disszertációjának jelentős részében a farmakológiai PARP-gátlás kardiovaszkuláris hatásait tanulmányozta. Egy target, egy biológiai folyamat viszont nemcsak farmakonokkal befolyásolható, hanem egyéb más lehetőségekkel is (siRNA, genetikailag módosított állat – KO/Tg állatmodell). Ezen módszerek alkalmazásával specifikusabb és teljesebb gátlás/aktiválás érhető el, mint kismolekulákkal. Használt-e a jelölt esetlegesen ilyenféle módszereket, illetve azt kérdezem, hogy vajon az általa használt biológiai rendszerekben mennyire lehetnének esetleg használhatóak ezek a módszerek? És ha igen, tervez-e ilyen vizsgálatokat a jövőben?
2. Az előző kérdésben előkerült már a farmakológiai kezelések esetén a szelektivitás kérdésköre. Vajon a használt PARP-gátló molekulának (L-2286) nincs-e egyéb olyan más kimutatható hatása, amely előnyös volna a kardiovaszkuláris rendszer szempontjából (pl. Ca-csatorna blokkoló, ACE-gátló, béta-blokkoló hatás)? A disszertációban szerepel az oxidatív stressz biológiai következményeivel szembeni EC50 érték meghatározása. Az L-2286 PARP-gátló hatásának IC50 értékéről

azonban nem esik szó. Lehet erről tudni valamivel többet? Az irodalomban nem található meg ez az érték.

3. Inkább csak megjegyzés, de fontos, hogy a Western-blot során szerencsésebb lenne a jelátviteli faktorok foszforilációs állapotát nem(csak) egyes konstitutívan expresszáldó fehérjékre (aktin, GAPDH) normalizálni, hanem a szignalizációs molekula nem foszforilált formájával is össze lehetne azt hasonlítani.
4. A PARP-gátlás következtében jelentős mértékben csökken az érrendszeri és a kardiális remodellingben központi szerepet játszó kötőszövetes átépülés folyamata. A jelölt több, jelátviteli faktor kedvező irányú változását írja le ezzel kapcsolatban. Ismer-e esetleg ajelölt adatokat arra vonatkozóan, hogy mi lehet ennek a folyamatnak a pontosabb pathomechanizmusa?
5. A munlából jól kitűnik az, hogy az L-2286 adása mellett a mitokondriális fragmentáció jelentősen csökken. Vajon a mitokondriális dinamika, illetve a mitokondriális minőségkontroll egyéb folyamataira milyen hatása lehet ennek a molekulának? Lehet-e esetleg ezen folyamatok befolyásolásának a későbbiekben terápiás jelentősége a szívelégtelenség kezelésében?
6. A PARP enzimesalád tagjai a repair enzimek közé tartoznak, így a károsodott DNS szakaszok kijavításában játszanak szerepet. Emellett a jelen vizsgálat során azt láthatjuk, hogy L-2286 kezelés mellett a prosurvival jelátviteli faktorok aktivitása is konzekvensen emelkedik. Ezen faktorok aktiválása viszont a tumorgenezis szempontjából kedvezőtlennek mondható. A legtöbb kemoterápiás és biológiai terápiás eljárás mellett ezek a faktorok (pl. Akt-1, ERK1/2, PKCε) aktivitása drasztikusan csökken. E két tény tükrében az a kérdésem, hogy a jelölt munkája során találkozott-e rosszindulatú sejtburjánzással PARP-gátló kezelésben részesült állatok esetén, illetve ismeretei szerint a krónikus PARP-gátlás előmozdíthatja-e a tumorgenezist?
7. Rezveratrollal végzett állatkísérletei folyamán a Jelöltnek hasonló jelátviteli hatásokat és mitokondriális protektív hatásokat sikerült igazolnia, mint L-2286 kezelés esetében. Mi lehet ennek az oka? Lehetséges volna az, hogy vajon a rezveratrol is interferál a PARP enzimmal?
8. Rezveratrollal végzett humán klinikai vizsgálatait posztinfarktusos betegekben végezte, azonban ellentétben az állatkísérletekkel, itt a balkamra funkció megtartott volt és a rendelkezésre álló adatok alapján a betegek nem voltak szívelégtelenek sem. Érdekes lenne valóban szívelégtelen betegekben is megvizsgálni a rezveratrol hatásait, mely mivel ismerten fokozza a mitokondriális biogenezist (és látva a preklinikai eredményeket), potenciálisan hatékony lehetne szívelégtelen betegek kezelésében.

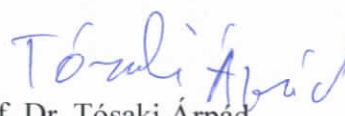
A jelölt új tudományos eredményeinek az alábbiakat fogadom el:

1. A PARP-1 enzim farmakológiai gátlásával mérsékelhető a szívelégtelenség kialakulásának folyamata. A Jelölt ezt a megállapítást minden lényeges etiológiai tényező (posztinfarktusos, hipertenzív, toxikus) által kiváltott szívelégtelenségben igazolta. PARP-gátlás mellett megmaradt a szív struktúrája és funkciója, mérsékelté vált a BNP szint emelkedése. Ennek köszönhetően javult a szívelégtelen állatok túlélése is. A PARP-gátlás ezen hatása összemérhető, illetve meg is haladja az ACE-gátló enalapril hatását.
2. PARP-gátló kezelés képes mérsékelni a hipertenzív szívbetegség és a vaszkuláris remodelling kialakulását, illetve kivédeni a magas vérnyomás káros központi idegrendszeri hatásait SHR patkányokban annak ellenére, hogy nincs érdemi vérnyomáscsökkentő hatása. Ezért a PARP enzim gátlása egy potenciális terápiás lehetőség lehet a szívelégtelenség megelőzésében és kezelésében, illetve a hipertenzív szervkárosodások kivédésében azon betegekben, akiknél a célvérnyomás elérésére nem lehetséges.
3. A PARP-gátlás a kardio- és cerebrovaszkuláris rendszerben mérsékli az akut és krónikus stressz-szituációk során kialakuló sejtvesztéssel, fibrózissal és funkciócsökkenéssel együttjáró patológiás átépülést. Ennek háttérében a NAD^+ tartalom prezervációján kívül számos egyéb intracelluláris folyamatra is kedvező hatással van. Növelik a sejttúlélésben szerepet játszó jelátviteli faktorok és útvonalak aktivitását (PI3K/Akt-1/GSK-3 β , PKC ϵ). Csökkentik ugyanakkor számos – a máladaptív folyamatokhoz köthető – PKC izoforma aktivitását, illetve az MKP-1 enzim fokozott expresszióján keresztül, gátolja a MAP kinázok aktivitását. PARP-gátlás hatására megnő egyes hősokk-fehérjék (Hsp72 és Hsp90) mennyisége is.
4. A PARP-gátlás csökkenti emellett a celluláris stressz hatására létrejövő mitokondrium fragmentáció mértékét a Drp-1 mitokondriális felhalmozódásának gátlásán keresztül. Ennek következtében a mitokondriumok méretének eloszlása és a mitokondrium ultrastruktúrája egyaránt a fiziológiához közelít. Következésképpen javul a mitokondriumok funkciója, a légzési lánc fehérjéinek aktivitása, illetve csökken a másodlagos, ROS-indukálta ROS termelődés.
5. Rezveratrol mérsékli a posztinfarktusos szívelégtelenség kialakulását kisállat modellben. Ennek háttérében az oxidatív stressz és a kollagén lerakódás mérséklődése észlelhető, valamint a remodellingben szerepet játszó szignalizációs faktorok kedvező befolyásolása igazolható.
6. Rezveratrol posztinfarktusos koronária betegekben az alkalmazott gyógyszeres szekunder prevenciók kezelés mellett további kardioprotektív hatással rendelkezik:

javítja a balkamrai diasztolés funkciót, az endotél funkciót, csökkenti az LDL-koleszterinszintet és védő hatást biztosít a posztinfarktusos betegekben észlelt kedvezőtlen hemoreológiai változásokkal szemben.

Összefoglalva megállapítható, hogy Dr. Halmosi Róbert eddigi kutatói munkája jelentős mértékben hozzájárult ahhoz, hogy a PARP-gátlás kardiovaszkuláris hatásait pontosabban megismerjük és ezen keresztül szívelégtelenségben és hipertóniában egy ígéretes kezelési lehetőséget mutat be. Mindezek alapján Dr. Halmosi Róbert MTA doktori disszertációjának nyilvános vitára bocsátását és sikeres védelem esetén az MTA doktori cím odaítélését messzemenően támogatom.

Debrecen, 2019. 06. 20.


Prof. Dr. Tószaki Árpád
az MTA doktora